



Çocuk hastalarda adenoid biyofilmle üst solunum yolu enfeksiyonları arasında bir ilişki var mı?

Is there any association between adenoid biofilm and upper airway infections in pediatric patients?

Gholamreza Bayazian, Shirin Sayyahfar, Mahdi Safdarian, Farbood Kalantari

İran Üniversitesi, Tıp Bilimleri, Kulak Burun Boğaz ve Baş ve Boyun Araştırma Merkezi ve Anabilim Dalı, Hazrat Rasoul Akram Hastanesi, Tahran, İran

Cite this article as: Bayazian G, Sayyahfar S, Safdarian M, Kalantari F. Is there any association between adenoid biofilm and upper airway infections in pediatric patients?. Turk Pediatr Ars 2018; 53: 71-7.

Öz

Amaç: Üst solunum yolu obstrüksiyonu olan çocuklarda adenoid biyofilmlerin varlığı ve derecesi ile üst solunum yolu enfeksiyonlarının sıklığı arasındaki ilişkiyi değerlendirmek.

Gereç ve Yöntemler: Bu kesitsel çalışma, obstrüktif uyku apnesi nedeniyle adenoidektomi aday olan çocuk hastalarda Ekim 2014 ile Aralık 2015 tarihleri arasında yürütülmüştür. Adenoid doku çıkarıldıktan ve %2,5 glutaraldehid içinde fikse edildikten sonra örnekler elektron mikroskobu birimine gönderilmiştir. Biyofilm oluşma derecesi, çevresel taramalı elektron mikroskopisi kullanılarak incelenmiştir. Bu sonuçlar daha sonra görüntü çözümleme programı kullanılarak doğrulanmıştır.

Bulgular: Ortalama yaşı 7,31 ($\pm 2,65$) olan 57 çocuk çalışmaya alınmıştır. Bu çocukların 43 tanesi (%75,4) erkekti ve 14 tanesi (%24,6) kızdı. Adenoidektomiden önce son 12 ay içinde üst solunum yolu enfeksiyonlarının ortalama sayısı 10,01 ($\pm 5,38$) olarak saptanmıştır. Örneklerin hepsinde (%100) biyofilm yapıları saptanmıştır. Temel sonuç olarak, biyofilm derecesi, üst solunum yolu enfeksiyonlarının sıklığı ile anlamlı bir korelasyon göstermiştir ($p < 0,001$). Cinsiyet ve adenoid boyutu ile biyofilm derecesi arasında anlamlı korelasyon saptanmamıştır.

Çıkarımlar: Bu çalışma, adenoid biyofilm derecesinin üst solunum yolu enfeksiyonlarının sıklığı ile anlamlı bir ilişki olduğunu göstermiştir. Adenoid yüzeyi üzerinde mikroorganizmalar için bir rezervuar işlevi gören bir biyofilmin varlığı kronik enflamasyona neden olabilmektedir.

Anahtar sözcükler: Adenoidektomi, biyofilmler, enfeksiyon, obstrüktif uyku apnesi

Abstract

Aim: To evaluate the association of the presence and extent of adenoid biofilms and the frequency of upper airway infections in children with upper airway obstruction.

Material and Methods: This cross-sectional study was conducted from October 2014 to December 2015 on pediatric patients who were candidates for adenoidectomy due to obstructive sleep apnea. After removal of the adenoid tissue and fixation in 2.5% glutaraldehyde, the samples were sent to the electron microscopy unit. The extent of biofilm formation was examined using environmental scanning electron microscopy. These results were then confirmed using image analysis software.

Results: Fifty-seven children with a mean age of 7.31 (± 2.65) years were included in the study. Forty-three (75.4%) were male and 14 (24.6%) were female. The average number of upper airway infections during the last 12 months before adenoidectomy was 10.01 (± 5.38). Biofilm structures were detected in all (100%) samples. As the main outcome, the extent of biofilm grading exhibited a statistically significant correlation with the frequency of upper airway infections ($p < 0.001$). There was no significant correlation between sex and adenoid size with the biofilm extent.

Conclusion: The present study showed that the extent of adenoid biofilm had a significant relationship with the frequency of upper airway infection rate. It seems that the presence of a biofilm on the adenoid surface as a reservoir for microorganisms could cause chronic inflammation.

Keywords: Adenoidectomy, biofilms, infection, obstructive sleep apnea

Giriş

Biyofilmler, kendi oluşturdıkları polimerik bir matriksle kuşatılmış olan ve etkinlik göstermeyen yüzeylere ya

da canlı yüzeylere yapışan yapılandırılmış bakteriyel topluluklardır (1). Biyofilm bakterileri, ekstraselüler polimerik maddeler (EPMLer) olarak bilinen polisakkaridler, nükleik asitler ve proteinlerden zengin bir substrat

Yazışma Adresi / Address for Correspondence: Mahdi Safdarian E-posta / E-mail: mahdisafdarian@gmail.com

Geliş Tarihi / Received: 13.10.2017 **Kabul Tarihi / Accepted:** 01.03.2018

©Telif Hakkı 2018 Türk Pediatri Kurumu Derneği - Makale metnine www.turkpediatriarsivi.com web adresinden ulaşılabilir.

©Copyright 2018 by Turkish Pediatric Association - Available online at www.turkpediatriarsivi.com

DOI: 10.5152/TurkPediatriArs.2018.6151

içinde yerleşmişlerdir (2). Bu karmaşık yapılar, bakterilerin, genetik olarak özdeş olan planktonik bakterilere göre, biyolojik olmayan tehlikelerden 10-1 000 kat daha yüksek oranda sağ kurtulmalarını sağlar. Böyle belirgin bir direncin metabolik hızlarda azalmaya bağlı olması muhtemeldir ve bu azalma, hücreleri bu hedef metabolik süreçler üzerinde etki eden antibiyotiklere karşı daha az duyarlı kılar. Azalmış metabolik aktivite, azalmış üreme hızı ve direnç genlerinin iletilmesi, biyofilmlerin antibiyotiklere karşı dirençli olma özelliğine katkıda bulunur (3).

Biyofilmlerin Kulak Burun Boğaz (KBB) hastalıklarında rol oynadığı giderek artan bir oranda bilinmektedir. Biyofilmin, kronik, mukoza bazlı KBB ile ilişkili enfeksiyonların sürekliliğindeki rolü ilk olarak otitis media tanınmıştır; ancak, efüzyonlu kronik otitis media (EKOM) ve tekrarlayan otitis media (TOM) olan çocuklarda orta kulak mukozasında bakteriyel biyofilmler gösterilene kadar kesin kanıt yetersizdi. Bu durum ortaya konduğundan beri, biyofilmlerin otitis media, sinüzit, kolesteatoma, tonsillit, adenoidit ve alet kontaminasyonlarının etiolojisinde rol oynadığı gösterilmiştir (4, 5).

Üst solunum yolu, bu tip kolonizasyon açısından yüksek risk taşımaktadır. Kronik ya/ya da tekrarlayan üst solunum yolu enfeksiyonları, antibiyotiklerin aktivitesini engelleyen ve bu şekilde sadece cerrahi tedavi ile eradike edilebilecek kronik bir enfeksiyonun oluşmasını destekleyen biyofilmin karmaşık yapısal ve biyokimyasal organizasyonu ile ilişkili olabilir (6). Adenoid doku üzerinde biyofilmlerin varlığı belirlenmiştir ve çok sayıda çalışma adenoid üzerinde biyofilmlerin varlığı ile kronik üst solunum yolu enfeksiyonlarının oluşumu arasındaki korelasyonu ortaya koymuştur. Bu bulgu, adenoid dokunun çıkarılması ile enfeksiyonların tekrarlamasındaki azalmayı gösteren çalışmalarla da desteklenmiştir. Doku çıkarılmasına dayalı tedaviler ve önlemler açısından rasyonel stratejiler geliştirmek için kronik bakteriyel enfeksiyonların biyofilmle ilişkili olduğuna inanmak önemlidir (7). Adenoid, kronik otolaringolojik enfeksiyonlara katkıda bulunan bakteriyel bir rezervuardır. Adenoidin çıkarılması, pediatrik sinüzit ve orta kulak iltahabını kontrol etmek açısından etkili olabilir (5). Akut orta kulak iltahabı (AOM) ve (EKOM) olan çocukların adenoid yüzeylerinde biyofilmler bildirilmiştir (8). Adenoid hipertrofi, çocukluk döneminde sık görülen bir bulgudur ve muhtemelen AOM, efüzyonla birlikte tekrarlayan otitis media (TOM) ve obstrüktif uyku apnesi (OUA) ile ilişkilidir ve üst tükünün fizik-

sel tıkanıklığının ortadan kaldırılmasını ve orta kulakta normal basınç ve mukus drenajının oluşturulmasını içeren adenoidektomi, EKOM için etkili bir tedavi olarak bilinmektedir (8).

Nazofaringeal enfeksiyonlarda biyofilm oluşumunun rolü ile ilgili çalışmaları göz önüne alarak, respiratuar obstrüktif semptomları olan çocuklarda adenoid yüzeyde bulunan biyofilm derecesi ile hastaneye kabulden önceki 12 aylık süre içinde üst solunum yolu enfeksiyonlarının sıklığı arasındaki ilişkiyi bir tarayıcı elektron mikroskobu (TEM) kullanarak değerlendirmek için bu kesitsel çalışmayı tasarladık.

Gereç ve Yöntemler

Etik

Bu çalışma, İran Üniversitesi, Tıp Bilimleri, KBB-Baş ve Boyun Cerrahisi Araştırma Merkezi yerel Etik Komitesi tarafından etik açıdan onaylanmıştır (13A401). Çalışmanın sponsorluğunu da bu kurum yapmıştır. Hastalar, bakımverenler tarafından bir onam formu imzalandıktan sonra çalışmaya alınmışlardır. Hastaların bilgileri gizli tutulmuştur ve sadece çalışmanın amaçları için kullanılmıştır.

Çalışma tasarımı ve popülasyon

Bu kesitsel çalışmada, üst solunum yolu obstrüksiyonu semptomları ve adenoid hipertrofisi olup adenoidektomi adayı olan ve Ekim 2014 ile Aralık 2015 tarihleri arasında Ali-Asghar Çocuk Hastanesi KBB ve Pediatrik Enfeksiyöz Hastalıklar Kliniği'ne başvurmuş olan çocukları değerlendirdik. Yaşam kalitesini bozan derecede üst solunum yolu obstrüksiyonu cerrahi için bir endikasyon kabul edilmiştir. Kistik fibrozis, immün yetmezlik, alerjik rinit, septal deviasyon ve astım gibi solunum yolları bozuklukları olan hastalar ve cerrahi öncesindeki iki haftalık süre içinde antibiyotik kullanım öyküsü olan hastalar çalışma dışında bırakılmıştır. Çalışmaya alınan hastalar, adenoid boyutunu nazofaringeal boyuta göre (adenoid nazofarenks oranı) derecelendirmek üzere, lateral nazofarenks grafisi kullanılarak cerrahi öncesinde değerlendirilmişlerdir ve dört gruba ayrılmışlardır [%25'den az (grade 1), %25-50 (grade 2), %50-75 (grade 3) ve %75'den yüksek (grade 4)]. Soğuk algınlığı, farenjit, sinüzit, sinobronşit ve rinosinüzit gibi üst solunum yolu enfeksiyonlarının cerrahi öncesindeki 12 aylık dönemde sıklığı, hastanın muayene kayıtlarına ya/ya da bakım sağlayıcının verdiği öyküye göre kaydedilmiştir. Bütün hastalarımızda hava yolu tıkanıklığı bulguları bulunduğu için, adenoid hipertrofisinin otit etiolojisin-

deki muhtemel obstrüktif etki mekanizması nedeni ile otit atakları enfeksiyonlara alınmamıştır. Hastaların yaş ve cinsiyet gibi demografik özellikleri, obstrüktif bulguların süresi, önceki 12 ay içinde üst solunum yolu enfeksiyonlarının sayısı ve adenoid boyutu (lateral nazofarenks grafisine göre), OUA (uyku esnasında üst hava yollarının kollapsına ikincil olarak ortaya çıkan tekrarlayan apne ve hipopne atakları), horlama, ağızdan nefes almak, diş sorunları, konuşma bozuklukları, enürezis ve uykuda huzursuzluk (gece horlama eşilik ediyorsa) gibi uzun süreli üst hava yolu obstrüksiyonu bulguları gibi klinik bulgularla birlikte önceden tasarlanmış bir kontrol listesine kaydedilmiştir (9). İleriye dönük veri toplama döneminde, hastalar önceki 12 ay içinde üst solunum yolu enfeksiyonu sayısına göre beş kategoriye ayrılmışlardır: beşten az enfeksiyon, 5-8 enfeksiyon, 9-12 enfeksiyon, 12'den fazla enfeksiyon ve 15'den fazla enfeksiyon. Bütün hastalar obstrüktif bulgular nedeni ile opere edilmiştir ve cerrahi için hastaneye kabul esnasında aktif enfeksiyon saptanmamıştır.

Kronik rinosinüzitin (KRS) klinik tanımı, sinonazal mukozal enfeksiyonun objektif olarak doğrulanmasına ek olarak 12 hafta süre ile subjektif bulguların bulunması şeklinde kabul edilmiştir (10).

Örneklerin hazırlanması

Adenoidektomi, birinci yazar tarafından akademik bir üçüncü basamak çocuk hastanesinde adenotom kullanılarak yapılmıştır ve adenoid dokunun nazofarengeal yüzeyinin iki farklı bölümünden elde edilen örnekler bir otolaringolog tarafından bıçakla kesilmiştir. Adenoid doku örnekleri, kan ve sekresyonları uzaklaştırmak üzere steril izotonik tuzlu su solüsyonunda yıkanmışır, %2,5 gluteraldehid içinde 24 saat süre ile fikse edilmiştir ve haftalık olarak elektron mikroskop birimine gönderilmiştir. Bu esnada, örnekler kuru ve soğuk bir yerde 20-25°C'de saklanmıştır. Daha sonra, örnekler bir vakum kap içinde kurutulmuştur (10-3 Torr) ve fiziksel buharlı bırakım (Gold Coater: Yarnikan Saleh) kullanılarak 30-50-nm- kalınlıkta altın tabakası (voltaj 800 V, 100 mA) ile püskürtümlü kaplama uygulanmıştır.

TEN görüntülemesi

Görüntüler, a Philips XL30 çevresel taramalı electron mikroskopu (ÇTEM) altında incelenmiştir. Biyofilm yapısı için Chole ve Faddis'in tanımını ("amorf matriks içerisinde yoğun bakteri birikintileri") kullandık (11). İlgi alanlarını incelemek üzere örnekler 20-25 kVp 'lik bir voltaj ile ve $\times 15$ ile $\times 2500$ ($\times 15$, $\times 50$, $\times 100$, $\times 200$, $\times 500$,

$\times 1000$ and $\times 2500$) arasında bir büyütme aralığında görüntülenmişlerdir. Adenoid dokunun yüzey tabakası, biyofilm oluşumu açısından, TEM altında tek kör olarak Elektron Mikroskop Laboratuvarında (Kimiazi Analiz Araştırma Grubu) incelenmiştir. İlgili yazar bütün görüntüleme seanslarında bulunmuştur ve kurum çalışanı görüntülemeyi onun rehberliğinde gerçekleştirmiştir. Temel sonuç ölçümü olarak biyofilm derecelendirmesi, biyofilm oluşumu tarafından kaplanmış olan adenoid yüzey alanına dayalı olarak beş kategoride yapılmıştır: %20'den az (grade 1), %20-40 (grade 2), %40-60 (grade 3), %60-80 (grade 4 ve %80'den fazla (grade 5). Sonuçlar daha sonra Clemex Vision dijital görüntü analiz programı, Versiyon 3,5 (Clemex Technologies Inc, Quebec, Canada) kullanılarak kontrol edilmiştir.

İstatistiksel Çözümleme

Veriler SPSS 18 (SPSS Inc, Chicago, Illinois, USA) kullanılarak çözümlenmiştir. Kantitatif değişkenler (mesafeler gibi) ortalama ve standart sapma (SS) olarak ifade edilmiştir. Üst hava yolu enfeksiyon gruplarında, adenoid büyüklüğü ve biyofilm derecesi arasında korelasyon karşılaştırması için Goodman ve Kruskal'ın gamma katsayısı kullanılmıştır. Cinsiyet ve adenoid büyüklüğü ve biyofilm derecesi arasındaki ilişkiyi karşılaştırmak için Fisher'in kesin testi kullanılmıştır. 0,05'ten küçük olan p değerleri anlamlı kabul edilmiştir.

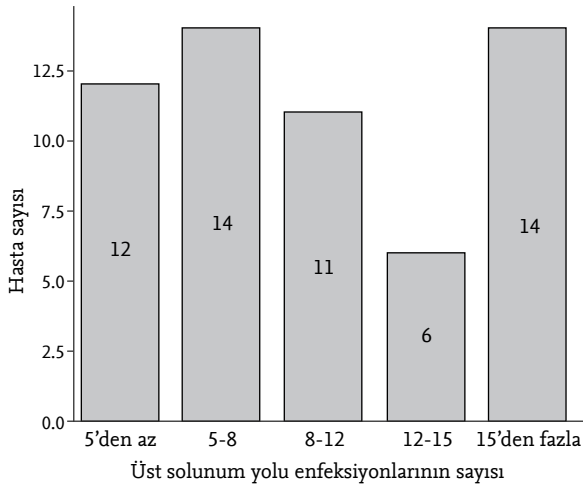
Bulgular

Ortalama yaşı 7,31 ($\pm 2,65$) (aralık, 28 ay ile 13 yaş arasında) olan toplam 57 çocuk çalışmaya alınmıştır ve bunların 43'ü (%75,4) erkektir. Cerrahiden önceki son bir yıl içinde üst solunum yolu enfeksiyonlarının ortalama sayısı 10,01 ($\pm 5,38$) olarak saptanmıştır. Tablo 1'de, birlikte bulunan bulguların sıklıkları gösterilmiştir. Horlama ve ağızdan nefes alıp verme, bütün katılımcılarda gözlenmiştir (%100). Adenoid yüz görünümü (%77,2),

Tablo 1. İlişkili semptomların sıklıkları

| İlişkili semptomlar | Sayı | Oran |
|---------------------------|------|-------|
| Horlama | 57 | %100 |
| Ağızdan soluk alıp vermek | 57 | %100 |
| Adenoid yüz görünümü | 44 | %77,2 |
| Diş sorunları | 37 | %64,9 |
| Obstrüktif uyku apnesi | 36 | %63,2 |
| Konuşma bozuklukları | 31 | %54,4 |
| Uykuda huzursuzluk | 26 | %45,6 |
| Enürezis | 13 | %22,8 |
| Uyurgezerlik | 10 | %17,5 |

diş sorunları (%64,9), OUA (%63,2) ve konuşma bozuklukları (%54,4) sırası ile diğer en sık görülen bulgular. Bulguların ortalama süresi 2,5 yıl olarak saptanmıştır (30±21,4 ay) (aralık: 2 ay ile 7,5 yıl arasında). Otuz yedi (%64,9) hasta nazal kortikosteroid spreyler kullanmışlardır ve tedaviye tatminkar yanıt alamamışlardır. Has-

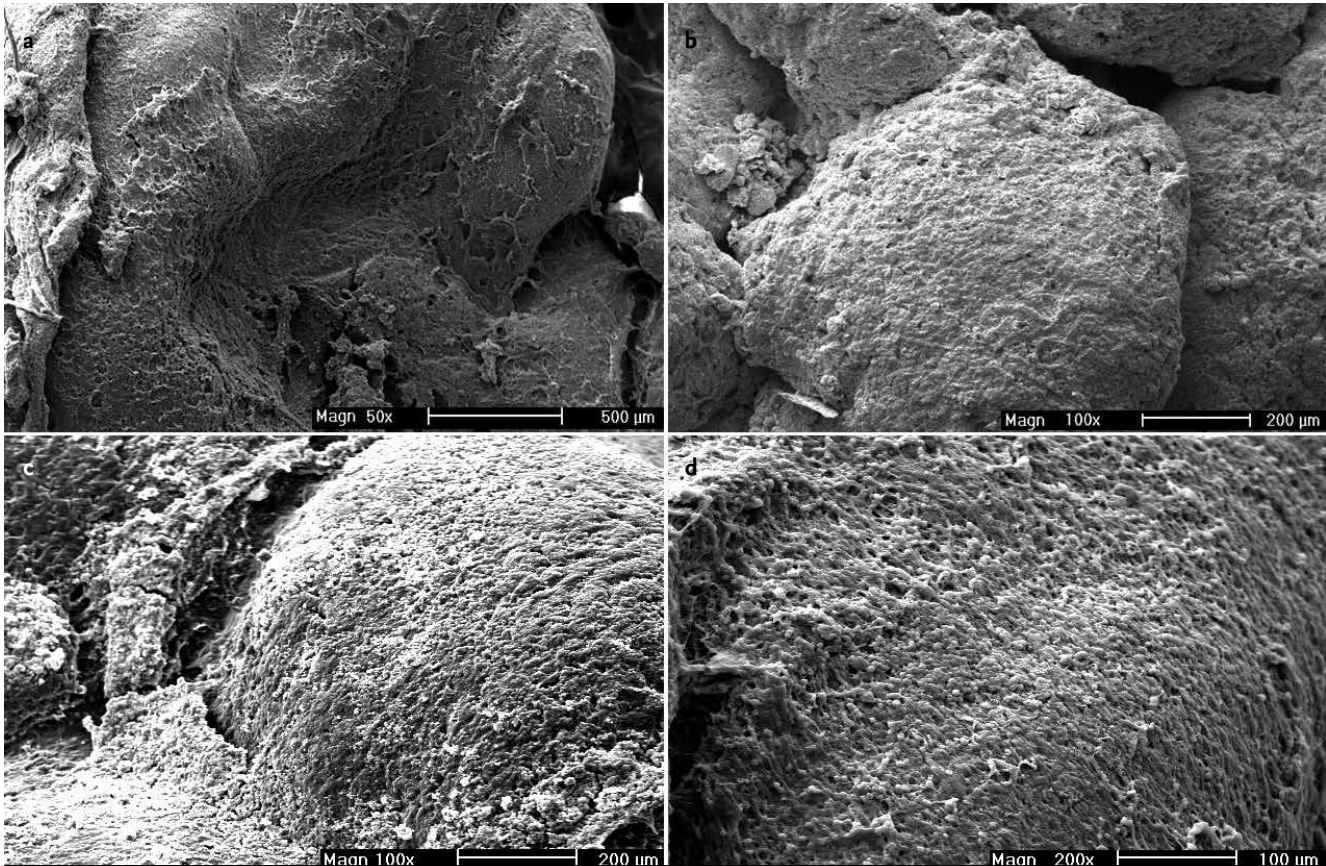


Şekil 1. Üst solunum yolu enfeksiyonlarının sayısına göre hasta sayısı

taların hiçbirisinde cerrahiden önceki iki hafta içinde antibiyotik tedavisi öyküsü bulunmamaktaydı. Adenoid boyutuna dayalı olarak, 33 (%57,9) hasta grade 4, 22 (%38,6) hasta grade 3 ve 2 (%3,5) hasta grade 2 olarak sınıflandırılmıştır; hiçbir hastada grade 2 adenoid büyüklüğü saptanmamıştır (Tablo 2). Şekil 1, üst solunum yolu enfeksiyonlarının sayısına göre hasta sayısını göstermektedir. Bütün örneklerde (%100), TEM kullanılarak farklı derecelerde biyofilm oluşumu saptanmıştır (Şekil 2). Çalışmanın temel sonucu olarak, biyofilm derecesi ile üst solunum yolu enfeksiyonu yaygınlığı arasında anlamlı bir ilişki saptanmıştır (Goodman ve Kruskal'ın gamma katsayısı, $p<0,001$). Ancak, adenoid büyüklüğü ile üst solunum yolu enfeksiyonlarının sayısı arasında ilişki saptanmamıştır (Goodman ve Kruskal'ın

Tablo 2. Adenoid büyüklüğünün nazofarengeal obstrüksiyon oranı açısından derecelendirilmesi

| Nazofarengeal obstrüksiyon oranı | Grade | Sayı | Oran |
|----------------------------------|-------|------|-------|
| %0-25 | 1 | 0 | %0 |
| %25-50 | 2 | 2 | %3,5 |
| %50-75 | 3 | 22 | %38,6 |
| %75-100 | 4 | 33 | %57,9 |



Şekil 2. Farklı büyütmelerde, bakteriyel biyofilm adı verilen ve ekstraselüler polimerik maddelerden oluşan zengin bir matriks içinde bulunan organize bakteri toplulukları

gamma katsayısı, $p=0,109$). Cinsiyet ve adenoid boutu (Fisher'in kesin testi, $p=0,544$) ve biyofilm derecesi arasında anlamlı bir ilişki saptanmamıştır (Fisher'in kesin testi, $p=0,737$).

Tartışma

Bu kesitsel çalışmada, adenoidektomi geçiren çocuklarda biyofilm derecesi ile son 12 aylık dönemdeki akut üst solunum yolu enfeksiyonu ataklarının sayısı arasındaki ilişkiyi değerlendirmeyi amaçladık. Adenoidektomi uygulanan önemli sayıda çocuğu çalışmaya aldık ($n=57$) ve bulgularımız, adenoiddeki biyofilm derecesinin, üst solunum yolu enfeksiyonu sıklığına katkıda bulunabileceğini düşündürmektedir. Diğer bir deyişle, biyofilm oluşumu derecelendirmesinde bir artış, enfeksiyon sıklığında artışla sonuçlanmıştır. Bu bulgu, adenoid üzerinde biyofilm oluşumunun varlığını, çocuk popülasyonda kronik üst solunum yolu enfeksiyonlarının bir nedeni olarak tanıtan daha önceki çalışmalarla bir şekilde uyumludur (12, 13). Safaan ve ark. (1) adenoid hipertrofisi (EKOM ile birlikte ve tek başına) olan hastalarda biyofilm oluşumunu incelemişler, adenoid dokusunu kronik enfeksiyonun bir nedeni olarak göstermişler ve EKOM olan hasta grubunda, EKOM olmayan hasta grubuna göre daha yüksek derecelerde biyofilm oluşumunu bildirmişlerdir.

Çalışmaların çoğu, EKOM, KRS, tekrarlayan AOM ve kronik adenotonsilliti olan hastalarda, saf üst solunum yolu obstrüksiyonu (çoğunlukla OUA) olan hastalara göre daha yüksek derecelerde biyofilm oluşumunu vurgulamıştır. Bildiğimiz kadarı ile, bizim çalışmamız, üst solunum yolu enfeksiyonları sıklığı ile biyofilm derecesi arasında bir korelasyonu gösteren ilk çalışmadır. Bu durum, adenoidlerin yüzeyinde enfeksiyon rezervuarı olarak biyofilm varlığına bağlı tekrarlayan üst solunum yolu enfeksiyonları olan çocuklarda, adenoidektominin etkili bir tedavi olacağını doğrulayabilir.

Çalışmamız adenoid büyüklüğü ile cinsiyet arasında biyofilm derecesine göre bir ilişki göstermemiştir. Bu bulgular, önceki çalışmaların bulguları ile de uyumludur. Örneğin, Saylam ve ark. (8) 2010 yılında, KRS olan hastaları OUA olan hastalarla karşılaştırarak, adenoid boyutu ve yaş, cinsiyet ve semptomların süresi arasında anlamlı bir ilişki olmadığını bildirmişlerdir. Doğal olarak, adenoid boyutu ve diğer değişkenlerin analizinde, çocukların büyük çoğunluğunda hipertrofik adenoidler bulunduğu için çalışmaya alınma ölçütleri nedeni ile örnekleme yanlılığı göz önünde bulundurulmalıdır.

Bu çalışmada, hastalarda, %25'den (grade 1) daha az nazofarengeal obstrüksiyon yoktu ve sadece iki hasta-

da %25-50 (grade 2) obstrüksiyon vardı. Geri kalan 55 hastada (%96,5) %50'nin üzerinde nazofarengeal obstrüksiyon vardı. Bu durum, çoğu hastanın nazal obstrüksiyon nedeni ile adenoidektomi adayı olduğunu göstermektedir. Bu durum, kabul edilebilir bir bulgudur, çünkü adenoidektomi için temel endikasyon üst hava yolu obstrüksiyonudur ve obstrüktif uyku apnesi, horlama ve ağızdan nefes almak gibi sonraki belirtiler bu projeye katılan bütün hastalarda benzerdir (%100). Saylam ve ark. (8) hastaları adenoid hipertrofiye bağlı hava yolu obstrüksiyonuna göre üç gruba ayırmıştır (%50'den az, %50-%75 ve %75'den fazla); 34 hastanın sadece ikisi ilk grupta dahil olmuştur.

Bakteriler, tarih boyunca izole organizmalar olarak düşünülmüşlerdir. Ancak, günümüzde, bakterilerin büyük çoğunluğunun, biyofilm olarak bilinen yüzeylere yapışık şekilde karmaşık topluluklar içinde var oldukları bilinmektedir (2). Chole ve Faddis'in (11) orjinal biyofilm keşfi, kronik veya tekrarlayan tonsilit nedeni ile çıkarılan 24 tonsilin 17'sinin (%70,8) biyofilm içerdiğini gösteren bir çalışmada doğrulanmıştır (14). Biyofilmler, tedaviye yanıtızsız üst solunum yolu enfeksiyonları olan hastalardan çıkarılan tonsiller, adenoidler ve etmoid ya da maksiller sinus mukozasından oluşan cerrahi örneklerinin %65,6'sında gösterilmiştir (6). Kronik olarak hastalıklı adenoidlerde bakteriyel biyofilmlerin varlığı açısından güçlü anatomik kanıt vardır. Adenoidler içinde bulunan bakteriyel biyofilmler, bazı tonsillit formlarının tekrarlama özelliğini ve kronikliğini açıklayabilir, çünkü biyofilmler içinde bulunan durağan bakteriler konak savunmasına ve antibiyotiklere karşı dirençlidir (11). Benzer bir çalışmada, Galli ve ark. (13) tekrarlayan üst solunum yolu enfeksiyonları olan hastalardan elde edilen cerrahi doku örneklerinde biyofilmlerin varlığını kanıtlamaya ve bunların bu enfeksiyöz süreçlerin kronikliğindeki olası rolünü belirlemeye çalışmışlardır. In vitro etkinliği olan antibiyotikler ve anti-enflamatuvar ajanlarla tekrarlayan tedavilere rağmen sebat eden üst solunum yolu enfeksiyonları olan 28 hastanın üst solunum yolundan elde edilen 32 cerrahi örneği incelemişlerdir. Bu çalışmada, bu doku örneklerinin %80'den fazlasında, kültür pozitif olarak saptanmıştır ve bakteriyel biyofilmler, bu doku örneklerinin %65,6'sında gözlenmiştir (5).

Galli ve ark. (13), tekrarlayan üst solunum yolu enfeksiyonu ve dirençli EOM tanısı ile incelenen bütün hastalarda, adenoid dokuda biyofilm pozitifliği de bildirmişlerdir. Lin ve ark. (7) Tayvan'da *S. aureus* adenoiditis olan çocuklarda adenoid hiperplazisi ve biyofilm oluşumunu karşılaştırmışlardır. Bu hastalar, metisiline

dirençli ve metisiline duyarlı *S. aureus*'la-enfekte gruplar olarak iki gruba ayrılmıştır. Bu çalışmada, adenoid hiperplazisinin ciddiyeti ve ileri derece biyofilm oluşumu, metisiline dirençli *S. aureus* ile enfekte hastalarda, metisile duyarlı *S. aureus* (MSSA) ile enfekte hastalara göre daha belirgin bulunmuştur (7).

Çocukların nazofrenkslerinde biyofilm oluşumu, standart antibiyotiklere dirençli bakteriyel patojenler için kronik bir rezervuar olarak işlev görebilir. Ayrıca, nazofarengeal biyofilmlerin mekanik olarak debridmanı, bu pediatrik hasta grubunda, adenoidektomi ile ilişkili olarak gözlenen klinik yararı açıklayabilir. Adenoidektominin, KRS ve EKOM olan çocuklarda, tekrarlayan enfeksiyonu önlemek açısından etkili olduğu bilinmektedir ve adenoidlerde biyofilmleri tanımlayan yeni çalışmalar, bu klinik gözlemi açıklamaya yardımcı olabilir. Örneğin, kronik rinosinüziti olan çocuklardan çıkarılan adenoidlerin mukozal yüzey alanının ortalama %94,9'u biyofilmlerle kaplıdır; OUA olan çocuklardan çıkarılan yüzey alanının ise %1,9'u biyofilmlerle kaplıdır (12).

Diğer çalışmalarda gösterildiği üzere, biyofilm yapısı ile kaplı adenoid yüzeyinin oranını hesaplamının en iyi yolu, elektron mikroskopisi (EM) biriminde deneyimli bir TEM operatörü ve bu çalışmada biyofilm derecesini doğrulamak için kullanılmış olan Clemex veya Carnoy gibi görüntü analizi yazılım programları kullanmaktır. elektron mikroskopisi biriminde, örneğin farklı bölümleri farklı büyütme oranlarında görülebilir ve bu şekilde biyofilm yapısı tarafından kaplanmış toplam adenoid yüzeyi en iyi şekilde hesaplanabilir. Bu yazılım programları, biyofilmle kaplı adenoid yüzeyinin kesin oranını belirlemek için genellikle uygun ve doğru sonuç veren araçlardır. Ancak, kırılmış bir görüntü her zaman tüm örnek yüzeyine yayılamaz. Diğer bir deyişle, bu yazılım programları, biyofilm derecesinin hesaplanmasından ziyade, mühendislik için ya da periferik kan yaymaları (PKY) gibi özgün biyolojik örnekler için uygun araçlardır. Bu programlarda, kırılmış görüntü yakalama analizi tüm örneğe yayılabilir. Çalışmamızın avantajlarından bir tanesi, esas olarak mühendislik ve materyal analizi için tasarlanmış olan ve diğer çalışmalarda kullanılmış olan TEM'e karşılık, özel olarak ıslak örnekler için tasarlanmış olan bir elektron mikroskopu olan ÇTEM kullanılmış olmasıdır. Bu nedenle, çalışmamızda görüntülemenin kalitesi önceki çalışmalara göre anlamlı derecede daha iyidir.

Çalışmanın kısıtlılıkları

Bu çalışmanın bazı kısıtlılıkları göz önünde bulundurulmalıdır. Çalışmada, hastalardan çok ayrıntılı bir şe-

kilde öykü alınmıştır. Üst solunum yolu enfeksiyonları kaydı olmaması, tamamen hastalardan ve bakım vericilerden aldığımız öyküye dayanmamıza neden olmuştur. Bu altyapısal bir sorun olmasına ve çalışmanın tasarımı ile doğrudan ilişkili olmamasına rağmen, bu kısıtlılığın, enfeksiyon sayısını alt gruplara kategorize ederek ve daha doğru öykü alımı için daha fazla zaman harcayarak azaltmaya uğraştık. Hasta sayısının az olması ve kontrol grubunun olmaması da kısıtlılıklar olarak düşünülebilir.

Sonuç olarak, üst solunum yolu enfeksiyonlarının sıklığı, adenoid yüzey üzerinde bulunan ve mikroorganizmalar için bir rezervuar işlevi gören biyofilmin varlığı ve derecesi ile muhtemelen ilişkili görünmektedir. Bu bulgu, tekrarlayan üst solunum yolu enfeksiyonları olan çocuklarda, adenoidektominin etkin bir tedavi olduğunu düşündürülebilir. Otolaringolojik hastalıklarda biyofilm oluşumunun önemli rolünü göstermek için daha fazla çalışmaya gereksinim vardır.

Etik Kurul Onayı: Bu çalışma için etik kurul onayı İran Üniversitesi Tıbbi Bilimler Baş ve Boyun Araştırma Merkezi'nden alınmıştır (13A401).

Hasta Onamı: Yazılı hasta onamı bu çalışmaya katılan hastaların ebeveynlerinden alınmıştır.

Hakem Değerlendirmesi: Dış bağımsız.

Yazar Katkıları: Fikir - G.B., S.S.; Tasarım - G.B., S.S.; Denetleme - G.B.; Veri Toplanması ya/ ya da İşlemesi - M.A.; Analiz ya/ya da Yorum - M.S.; Dizin Taraması - M.S., S.S., F.K.; Yazıyı Yazan - G.B., M.S., F.K.; Eleştirel İnceleme - G.B., M.S., S.S., F.K.; Diğer - G.B., S.S., M.S., F.K.

Teşekkür: Yazarlar, Dr. Mohammad Mahdi Ahadian'a bu projenin düzenlenmesi için verdiği içten yardımları nedeni ile teşekkür ederler. Ayrıca, Kimiazi araştırma analiz grubu personeline ve özellikle Babak Akbari'e de teşekkürlerimizi sunarız.

Çıkar Çatışması: Yazarlar çıkar çatışması bildirmemişlerdir.

Mali Destek: Bu çalışma, Mahdi Safdarian'nın Dr Gholamreza Bayazian'nın denetimi altındaki tıp doktorluğu tezine dayanmaktadır ve İran Üniversitesi Tıbbi Bilimler (İÜTB), Hazrat Rasoul Akram Hastanesi, KBB ve Baş ve Boyun Araştırma Merkezi ve Anabilim Dalı (Tahran, İran) tarafından onaylanmış ve mali olarak desteklenmiştir.

Ethics Committee Approval: Ethics committee approval was received for this study from the local ethics committee of the ENT-Head & Neck Surgery Research Center of Iran University of Medical Sciences (13A401).

Informed Consent: Written informed consent was obtained from the parents of the patients who participated in this study.

Peer-review: Externally peer-reviewed.

Author Contributions: Concept - G.B., S.S.; Design - G.B., S.S.; Supervision - G.B.; Data Collection and/or Processing - M.A.; Analysis and/or Interpretation - M.S.; Literature Review - M.S., S.S., F.K.; Writing - G.B., M.S., F.K.; Critical Review - G.B., M.S., S.S., F.K.; Other - G.B., S.S., M.S., F.K.

Acknowledgement: The authors wish to thank Dr Mohammad Mahdi Ahadian for his kind assistance in the establishment of this project. We are also grateful to Kimiazi research analysis group staff, especially Mr. Babak Akbari.

Conflict of Interest: No conflict of interest was declared by the authors.

Financial Disclosure: This study was based on the M.D. thesis of Mahdi Safdarian under the supervision of Dr Gholamreza Bayazian and was approved and financially supported by the ENT and Head & Neck Research center and Department, Hazrat Rasoul Akram Hospital, Iran University of Medical Sciences (IUMS), Tehran, Iran.

Kaynaklar

1. Saafan ME, Ibrahim WS, Tomoum MO. Role of adenoid biofilm in chronic otitis media with effusion in children. *Eur Arch Otorhinolaryngol* 2013; 270: 2417-25. [\[CrossRef\]](#)
2. Psaltis AJ, Ha KR, Beule AG, Tan LW, Wormald PJ. Confocal scanning laser microscopy evidence of biofilms in patients with chronic rhinosinusitis. *Laryngoscope* 2007; 117: 1302-6. [\[CrossRef\]](#)
3. Borriello G, Werner E, Roe F, Kim AM, Ehrlich GD, Stewart PS. Oxygen limitation contributes to antibiotic tolerance of *Pseudomonas aeruginosa* in biofilms. *Antimicrob Agents Chemother* 2004; 48: 2659-64. [\[CrossRef\]](#)
4. Hall-Stoodley L, Hu FZ, Gieseke A, et al. Direct detection of bacterial biofilms on the middle-ear mucosa of children with chronic otitis media. *JAMA* 2006; 296: 202-11. [\[CrossRef\]](#)
5. Zuliani G, Carlisle M, Duberstein A, et al. Biofilm density in the pediatric nasopharynx: recurrent acute otitis media versus obstructive sleep apnea. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 2009; 118: 519-24. [\[CrossRef\]](#)
6. Galli J, Ardito F, Calo L, et al. Recurrent upper airway infections and bacterial biofilms. *J Laryngol Otol* 2007; 121: 341-4. [\[CrossRef\]](#)
7. Lin CD, Tsai MH, Lin CW, et al. Association of adenoid hyperplasia and bacterial biofilm formation in children with adenoiditis in Taiwan. *Eur Arch Otorhinolaryngol* 2012; 269: 503-11. [\[CrossRef\]](#)
8. Saylam G, Tatar EC, Tatar I, Ozdek A, Korkmaz H. Association of adenoid surface biofilm formation and chronic otitis media with effusion. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 2010; 136: 550-5. [\[CrossRef\]](#)
9. Rodrigues AP, Pinto P, Nunes B, Bárbara C. Obstructive sleep apnea: epidemiology and portuguese patients profile. *Rev Port Pneumol* 2017; 23: 57-61. [\[CrossRef\]](#)
10. Fokkens WJ, Lund VJ, Mullol J, et al. European position paper on rhinosinusitis and nasal polyps 2012. *Rhinol Suppl* 2012; 23: 3 p preceding table of contents, 1-298.
11. Chole RA, Faddis BT. Anatomical evidence of microbial biofilms in tonsillar tissues: a possible mechanism to explain chronicity. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 2003; 129: 634-6. [\[CrossRef\]](#)
12. Cotichia J, Zuliani G, Coleman C, et al. Biofilm surface area in the pediatric nasopharynx: Chronic rhinosinusitis vs obstructive sleep apnea. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 2007; 133: 110-4. [\[CrossRef\]](#)
13. Galli J, Calo L, Ardito F, et al. Bacterial biofilm identification in the rhinopharyngeal mucosa of children with recurrent infection of the upper respiratory tract and otitis media. *Pediatr Med Chir* 2008; 30: 31-4.
14. Kania RE, Lamers GE, Vonk MJ, et al. Demonstration of bacterial cells and glycocalyx in biofilms on human tonsils. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 2007; 133: 115-21. [\[CrossRef\]](#)